



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Raphanus sativus* sobre
Escherichia coli cepa ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO
CIRUJANO**

AUTOR

YONEL DANIEL FIGUEROLA VÁSQUEZ

ASESORES

DR. MARCO ANTONIO ALFARO ANGULO

MG. JOSE LUIS FERNANDEZ SOSAYA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

TRUJILLO, PERÚ

2018

Dedicatoria

A Dios por bendecirme con su infinito amor y haberme acompañado en el transcurso de mi vida permitiéndome compartir este momento de felicidad con mis seres queridos.

A mis padres por su esfuerzo para darme un futuro mejor, porque siempre estuvieron conmigo brindándome su apoyo incondicional y fueron ellos quienes estuvieron presentes en mi mente en cada paso que di.

Al Dr. Marco Antonio Alfaro Angulo quien con sus enseñanzas y sabiduría supo guiarme en el desarrollo de este trabajo.

Agradecimiento

A mis padres, porque creyeron en mí, por su apoyo y comprensión, además por brindarme ejemplos dignos de superación y entrega, gracias a ellos he podido ir alcanzando mis metas, ya que siempre están impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera.

A mi hermana por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida.

Presentación

Señores Miembros del Jurado,

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo para obtener el título profesional de médico cirujano, presento ante ustedes la Tesis titulada “Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Raphanus sativus* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino”, cuya finalidad es aportar conocimientos sobre la actividad antibacteriana del extracto etanolico de *Raphanus sativus* sobre la *Escherichia coli*, para incentivar a la realización de futuras investigaciones para que se continúen generando conocimientos acerca del efecto antibacteriano de esta planta.

El presente trabajo está organizado en los siguientes capítulos:

El capítulo I, aborda la realidad problemática, los trabajos previos a nivel internacional, nacional y local; las teorías relacionadas al tema, la formulación del problema, su justificación, hipótesis y objetivos.

El capítulo II, trata la parte metodológica, se detalla el diseño de investigación, las variables, su operacionalización, su población, técnicas métodos de análisis y aspectos éticos.

Finalmente se ofrecen las referencias y los anexos relacionados a la investigación.

En cumplimiento con los requisitos de aprobación, confío en que ustedes sabrán valorar el esfuerzo desplegado en su elaboración, la misma que someto a vuestra consideración y justo criterio al emitir su dictamen correspondiente, para obtener el título Profesional de Médico Cirujano, expreso por adelantado mi más sincera gratitud.

Yonel Daniel Figuerola Vásquez

Índice

PÁGINA DEL JURADO	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento.....	iii
Declaratoria de autenticidad	iv
Presentación.....	v
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCION:.....	1
1.1. Realidad problemática	1
1.2. Trabajos previos:	2
1.3. Teorías relacionadas al tema	3
1.4. Formulación del problema	5
1.5. Justificación del estudio:	5
1.6. Hipótesis	5
1.7. Objetivos.....	5
1.7.1. Objetivo general	5
1.7.2. Objetivo específico	5
II. MÉTODO	6
2.1. Diseño de investigación:	6
2.2. Variables y operacionalización:	6
2.3. Población y muestra	8
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	8
2.5. Métodos de análisis de datos.....	9
2.6. Aspectos éticos:.....	10

III. RESULTADOS.....	11
IV. DISCUSION.....	13
V. CONCLUSIONES	15
VI. RECOMENDACIONES	16
VII. REFERENCIAS	17
ANEXO 1	22
ANEXO 2	23
ANEXO 3	24
ANEXO 4	25

RESUMEN

El objetivo de esta investigación es determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Raphanus sativus* sobre *Escherichia coli* cepa ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino, la población consistió en cultivo de *Escherichia coli*, para ello se estudió dos tipos de grupos: el efecto del extracto etanólico de *Raphanus sativus* frente a *Escherichia coli* cepa ATCC 25922 y la eficacia del ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* cepa ATCC 25922, utilizando el método de expansión de Kirby Bauer modificado. Los resultados que se obtuvieron en esta investigación fueron que el extracto etanólico a una concentración de 75% tiene efecto antibacteriano. Concluyendo así, que ambos grupos tienen efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* cepa ATCC 25922, presentando mayor efecto antibacteriano el ciprofloxacino.

Palabras clave: Efecto antibacteriano, *Raphanus sativus*, Ciprofloxacino, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The objective of this research is to determine the antibacterial effect of the ethanolic extract of *Raphanus sativus* on *Escherichia coli* strain ATCC 25922 compared with ciprofloxacin, the population consisted of *Escherichia coli* culture, for this two types of groups were studied: the effect of the ethanolic extract of *Raphanus sativus* against *Escherichia coli* strain ATCC 25922 and the efficacy of ciprofloxacin on *Escherichia coli* strain ATCC 25922, using the modified Kirby Bauer expansion method. The results obtained in this investigation were that the ethanolic extract at a concentration of 75% has an antibacterial effect. Concluding thus, that both groups have an antibacterial effect on *Escherichia coli* strain ATCC 25922, with a greater antibacterial effect, ciprofloxacin.

Key words: Antibacterial effect, *Raphanus sativus*, Ciprofloxacin, *Escherichia coli*.

I. INTRODUCCION:

1.1. Realidad problemática

La *Escherichia Coli*, es una bacteria Gram negativa perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Según la Organización Mundial de la Salud (1), al año se reportan 630 mil casos de enfermedades ocasionadas por *Escherichia Coli* predominando más en niños y ancianos, su infectividad y sus consecuencias se deben a la toxina Shiga causando principalmente enfermedades gastrointestinales e infecciones del tracto urinario, manifestándose en el organismo con sintomatología variada. (2).

Para las enfermedades producidas por la *Escherichia coli*, existen diversas opciones de tratamiento, el ciprofloxacino es uno de los antibióticos más conocidos y usados para la *Escherichia coli*, pertenece al grupo de las quinolonas, siendo su principal función la inhibición de la topoisomerasa IV y la DNA-girasa bacteriana (3). Está indicado primordialmente para tratar infecciones del tracto urinario, prostatitis bacteriana crónica, infecciones del tracto respiratorio bajo, infecciones de la piel y tejidos blandos, etc. (4)

En cuanto la medicina alternativa para combatir a la *Escherichia coli*, se tiene al *Raphanus sativus*, cuyos efectos son avalados en varias investigaciones (5). Es considerada una planta cosmopolita, que se desarrolla en suelos cálcicos, rojizos y fértiles (6); tiene una gran importancia en el campo medicinal y es conocida desde tiempos muy remotos por sus contenidos vitamínicos y minerales (7). Es por eso, que esta planta es estudiada mundialmente debido a que posee propiedades medicinales comprobadas en varios estudios experimentales, como el realizado en Estados Unidos en la cual determinaron el efecto antibacteriano de *Raphanus sativus* en cepas de *Escherichia coli*, en este estudio observaron que esta planta posee un alto halo de inhibición sobre las bacterias estudiadas, utilizando el extracto etanolico de *Raphanus sativus* se logra inhibir la cantidad de colonias de *Escherichia coli* desde 1.2 mm, mientras que en una investigación realizada en Estados Unidos se ha logrado observar que el halo de inhibición es de 21 mm (8,9).

1.2. Trabajos previos:

Ahmad F, et al;(Estados Unidos, 2012). El objetivo del estudio es observar el efecto antibacteriano del *Raphanus sativus* comparado con ciprofloxacino y cloranfenicol, utilizando un diseño experimental, in vitro utilizando la raíz de *Raphanus sativus* dentro de una placa Petri previamente cultivada con colonias de *Escherichia coli* en agar caldo Müller Hinton, se obtuvo como resultado que el extracto etanólico *Raphanus sativus* durante 24 horas logra una inhibición de 12-21 mm, mientras que el ciprofloxacino presenta mayor inhibición con promedio de 27- 27.4 mm (8).

Janjua S, et al;(Pakistán, 2013). Estudió el efecto antibacteriano del *Raphanus sativus* frente a diferentes bacterias como: *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Salmonella typhi*, entre otras; utilizando un estudio experimental, se inoculó la cáscara y raíz molidos del *Raphanus sativus* dentro de una placa Petri previamente infectada con colonias de *Escherichia coli*, obteniendo como resultado que la utilización de la cáscara y raíz del *Raphanus sativus* molido logra inhibir 1,2 mm de *Escherichia coli* (9).

Basantes V;(Ecuador, 2017). El objetivo principal del estudio es observar el efecto antibacteriano del *Raphanus sativus*, utilizando un diseño cuasi experimental, en una muestra de cultivo de *Escherichia coli*, obteniendo como resultado que el *Raphanus sativus* logra disminuir la cantidad de colonias de *Escherichia coli* (10).

Surekha S, et al; (India, 2011). El propósito del estudio es comprobar el efecto y la eficacia antibacteriana del *Raphanus sativus*, utilizando un diseño cuasi experimental, en la cual utilizó las semillas, hojas y el zumo de la raíz del *Raphanus sativus* inoculados en una placa previamente cultivada con *Escherichia coli* en agar caldo durante 24 horas a temperatura de 31°C, obteniendo como resultado que el *Raphanus sativus* logra disminuir las colonias de *Escherichia coli* (11).

Rani I, et al;(Pakistán, 2008). Analizó el efecto antibacteriano del *Raphanus sativus*, utilizando un estudio experimental, in vitro, utilizó la semilla triturada del *Raphanus sativus* e inoculándolo dentro de una placa cultivada con *Escherichia coli* durante tres a cuatro días,

concluyeron que el *Raphanus sativus*, logra disminuir la cantidad de colonias de *Escherichia coli* (12).

Escobar D. (México, 2010).Determino el efecto inhibitorio de la formación de biopelícula de *Escherichia coli* frente a la planta de *Raphanus sativus*, en un estudio descriptivo utilizando extracto etanólico y metanólico obtenidos del fruto de *Raphanus sativus* frente a la *Escherichia coli* en agar cerebro de corazón y Müller Hinton; el *Raphanus sativus* logra una inhibición general de 0.2- 1,2 cm de diámetro, ante la extracción etanólica se obtuvo un halo de inhibición de 0,2- 0,7 cm (13).

1.3. Teorías relacionadas al tema

La *Escherichia coli* es una bacteria Gram negativa que se caracteriza por ser morfológicamente en forma de bacilos, anaeróbica facultativa, su habitat natural es la flora intestinal, pero al haber alteración homeostática dentro del organismo genera una sintomatología muy variada. Posee una toxina que es capaz de generar una cascada inflamatoria dentro del organismo, caracterizándose por calambres abdominales, diarreas acompañadas o no de sangre, aumento de la temperatura corporal y vómitos, además de causar problemas gastrointestinales, también es causante de infecciones urinarias debido a que existe una continuidad entre el ano y la vagina, haciendo que esta migre con mayor facilidad generando así diversos síntomas sobre todo fiebre (14),

Existen varios tipos de *Escherichia coli* que producen diversas sintomatologías; *E. Coli Shigatoxigénica o Verotoxigénica*, *Enterohemorrágica*, *Enterotoxigénica*, *Enteroinvasiva*, *Enteropatogénica*, *Enteroagregativa* y de adherencia difusa. La *Escherichia coli* entero tóxica se presenta con diarrea aguda acuosa afectando mayormente a menores de 2 años; la *Escherichia coli* entero hemorrágica causante de diarreas sanguinolentas, dolor abdominal, elevación de la temperatura corporal y vómitos, atacan frecuentemente a niños y personas en etapa adulta, la *Escherichia coli* entero invasiva se caracteriza por producir diarreas acompañadas de moco y de rasgos de sangre, se evidencia más en menores de 6 meses de edad; la *Escherichia coli* entero patógena causa dolor abdominal, diarreas agudas, poca elevación de la temperatura corporal y vómitos, afectando principalmente a lactantes menores de 6 meses de edad con un límite hasta los 2 años; la *Escherichia coli* entero agregativa se caracteriza por diarreas líquidas, la cual tienen un tiempo de duración

aproximadamente hasta 20 días, son de color verde acompañada de moco, estas se presentan en recién nacidos o en menores de dos años de edad; por último la *Escherichia coli* difusa se diferencia por presentar solamente diarrea acuosa y afecta a personas de uno a cinco años de edad (15).

E. coli es una de las bacterias que con más frecuencia se ha aislado y de mayor importancia; el 61.08% se ha registrado en atención primaria, observándose un aumento de resistencia antibacteriana frente a diversos fármacos. Dentro de ellos el ciprofloxacino, pertenece al grupo de los antibacterianos sintéticos, cuyo mecanismo principal es la inhibición de la síntesis del ácido desoxirribonucleico (ADN) conduciendo así a la muerte celular bacteriana, este fármaco penetra la pared celular a través de porinas provocando la inhibición de las topoisomerasa cuatro y el DNA girasa cambiando su estructura genética con el fin de erradicarlo (16,17).

En medicina alternativa para eliminar al germen se puede utilizar al *Raphanus sativus*, planta cosmopolita, que se desarrolla en suelos sobre todo fértiles, con hábito de crecimiento indeterminado, que pueden comportarse como bianuales, al permanecer en estado de roseta hasta la próxima temporada de crecimiento. Se desarrolla muy bien en climas templados, con una temperatura óptima entre 18 y 22°C. (18)

Los principios activos del extracto etanólico son los flavonoides, zeaxantina, luteína que poseen efectos desintoxicantes, antiinflamatorios, antimicrobianos. La planta está compuesta principalmente por proteínas, yodo, vitaminas, folatos, lípidos, hidratos de carbono, fibra, agua, calcio, hierro, fosforo, potasio, entre otros (19).

Además, posee enzimas como la peroxidasa que le otorga la capacidad de degradar la pared bacteriana. Dentro de sus propiedades principales, actúa como diurético, depurativo, antioxidante, antiinflamatorio, potencia el sistema inmune, aumenta el apetito, por vía externa, alivia el dolor, es antibacteriano y antifúngico. Se suele utilizar la cáscara y la raíz molida de la planta para la obtención del extracto etanólico. (20, 21,22).

Se refiere que el extracto etanólico de *Raphanus sativus* es eficaz no solo con *Escherichia coli*, sino también con otros agentes como *Klebsiela*, *Pseudomona* y *Salmonella typhi*, debido

a que posee componentes como los flavonoides y enzima peroxidasa que permiten aumentar la permeabilidad y debilitar la pared bacteriana (9).

1.4. Formulación del problema

¿Qué efecto antibacteriano tiene el extracto etanólico de *Raphanus sativus* sobre *Escherichia coli* cepa ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino?

1.5. Justificación del estudio:

Promover el desarrollo de tratamientos médicos alternativos, no muy costosos y que no presenten formación de resistencia, como el ciprofloxacino es importante, por ello el presente trabajo busca aportar conocimientos sobre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Raphanus sativus* sobre la bacteria, para incentivar a la realización de futuras investigaciones llegando a generar conocimientos sobre el efecto antibacteriano de esta planta.

1.6. Hipótesis

H1: El extracto etanólico de *Raphanus sativus* tiene mayor efecto antibacteriano que ciprofloxacino sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

H0: El extracto etanólico de *Raphanus sativus* tiene menor efecto antibacteriano que ciprofloxacino sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

1.7. Objetivos

1.7.1. Objetivo general

- Evaluar si el extracto etanólico de *Raphanus sativus* tiene mayor efecto antibacteriano que el ciprofloxacino sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

1.7.2. Objetivo específico

- Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Raphanus sativus* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

- Determinar el efecto antibacteriano del ciprofloxacino sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

II. MÉTODO

2.1. Diseño de investigación:

Experimental únicamente con post prueba y grupo control.

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3

Donde:

RG: Grupo de estudio

G1: Extracto etanólico de *Raphanus sativus* al 75%

G2: Tratamiento con Gold Estándar: Ciprofloxacino

G3: Control negativo: Agua destilada

O: Las observaciones del diámetro del halo de inhibición.

2.2. Variables y operacionalización:

Variable independiente: Extracto etanólico de *Raphanus sativus* y ciprofloxacino

Variable dependiente: Efecto antibacteriano.

Operacionalización de variables:

Variable s	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador es	Escala de medición
Efecto antibacteriano	Es el efecto capaz de inhibir el crecimiento y desarrollo de bacterias o su eliminación sin dañar el organismo infectado.	Se consideró efecto antibacteriano si forma un halo inhibitorio mayor de 21 mm.	Efecto antibacteriano	Cualitativa nominal
Ciprofloxacino	El ciprofloxacino es un fármaco quimioterápico derivado de las 4-quinolonas, con actividad bactericida que Actúa por inhibición de la ADN girasa bacteriana (15).	La administración consistió en 500 mg/ml de ciprofloxacino.	Ciprofloxacino	Cualitativa nominal
Extracto etanólico de <i>Raphanus sativus</i>	El extracto etanólico de <i>Raphanus sativus</i> es aquella sustancia obtenida mediante la maceración de la planta aromática en etanol (alcohol etílico) (10).	Administración de extracto etanólico de <i>Raphanus sativus</i> al 75%.	extracto etanólico	Cualitativa nominal

2.3. Población y muestra

La población estuvo constituida por 18 placas Petri cultivadas con cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 en el Laboratorio San José.

La muestra fue obtenida a conveniencia. Se usaron 18 placas Petri y se realizaron 18 observaciones, se administró al azar *Raphanus sativus*, ciprofloxacino y en el control negativo con agua destilada (Anexo 1)

Unidad de análisis fue cultivos de cepas de *Escherichia Coli ATCC 25922*.

Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

- *Escherichia coli* ATCC 25922 cultivada 24-72 horas.
- Placas Petri con cultivos viables.

Criterios de exclusión:

- Cepas o muestra contaminada.

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

La técnica consistió en la observación de los cultivos en las placas petri.

El instrumento que se usó fue elaborado por el autor, constó de una ficha de recolección (Anexo 2); se utilizó la planta de *Raphanus sativus*, conseguido del vivero de la Municipalidad de Trujillo, debido a que esta institución cumple con todas las condiciones de regado y buen cuidado de las plantas. Se recolectaron 2 kilos de *Raphanus sativus* (preferentemente la planta con la hoja), las cuales fueron transportadas al laboratorio San José en un recipiente limpio y con agua para su conservación y que no sobrepase más de las 24 horas de extracción, se utilizó la técnica de maceración en las hojas y así se obtuvo el extracto etanólico. Las hojas se pusieron a secar en una estufa durante dos a tres días, luego estas hojas secas se colocaron en un macerado con alcohol de 96° durante 5 a 8 días en una temperatura de 40°, todo este proceso estuvo en constante agitación, después se hizo una

doble filtración, una con gasa estéril y la otra con papel filtro, se llevó la estufa a 40° de temperatura para la evaporización del alcohol quedando así el extracto etanólico (23).

En segundo lugar, se utilizó cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 conseguidas del Instituto Nacional de Salud, que se transportaron en un recipiente estéril hacia el laboratorio San José, se evaluó el grado de sensibilidad y resistencia bacteriana del ciprofloxacino frente a las cepas *Escherichia coli* según el halo de inhibición que otorga la The Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) (24), seguidamente se distribuyó de manera uniforme en una placa Petri preparada con agar Müller Hinton, las cuales fueron incubadas a 35°(25). (Anexo 3)

Para la interpretación de la actividad antibacteriana se utilizó el método de expansión Kirby Bauer (Anexo 4), empleando 8 discos de papel filtrado e impregnados con extracto etanólico de *Raphanus sativus* al 75%, estos papeles con el extracto se pusieron sobre las siembras de *Escherichia coli* en placas Petri, observando el resultado dentro 24- 48 horas, a través del método observacional se procedió al conteo de colonias inhibidas en milímetro (halos de inhibición) (26). Se empleó como control positivo al ciprofloxacino de 500 mg patentado por FARMINDUSTRIA S.A autorizado por la legislación del Ministerio de Salud, a través de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (27) y como control negativo círculos de solución salina fisiológica.

Validez y Confiabilidad del instrumento: No aplica.

2.5. Métodos de análisis de datos

Los datos recolectados fueron digitados en el programa Statistical Product and Service Solutions SPSS 21.1 versión para Windows (28), se utilizó la prueba t de student para determinar si hay diferencia significativa entre las medias de los grupos, posteriormente el análisis de varianza (ANOVA) nos permitió evaluar la significación estadística $p < 0.05$.

.

2.6. Aspectos éticos:

En el estudio se tomó en cuenta las medidas de bioseguridad en el laboratorio otorgadas por el ministerio de Salud (29)

Medidas de bioseguridad y normas de convivencia, establecidas por el laboratorio clínico San José.

III. RESULTADOS

Tabla N° 1. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Raphanus sativus* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Raphanus sativus	N°	Promedio de halo inhibitorio mm
Concentración al 75%	10	11.1

El extracto etanólico de *Raphanus sativus* a una concentración del 75% presentó efecto antibacteriano con un halo de inhibición promedio de 11.1 mm.

Tabla N° 2. Efecto del Ciprofloxacino sobre cepas de *Escherichia coli* cepa ATCC 25922.

Tratamiento farmacológico	N°	Promedio de halo inhibitorio mm
Ciprofloxacino	10	30.8

Las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 presentaron mayor halo de inhibición frente a ciprofloxacino.

Tabla N° 3a. Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Raphanus sativus* sobre la inhibición en la cepas de *Escherichia coli* cepa ATCC 25922.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Medida cuadrática	F	Probabilidad
Entre grupos	5890.28	4	1472.57	403.566687	1.2847 E-34
Dentro de los grupos	164.2	45	3.648888889		
Total	6054.48	49			

Se muestra la probabilidad mayor de 0.05, por consiguiente hay diferencia significativa entre las concentraciones del extracto etanólico de *Raphanus sativus* y Ciprofloxacino sobre cepas de *Escherichia coli* cepa ATCC 25922. Para determinar mejor el efecto antibacteriano se realizó las comparaciones múltiples de turkey

Tabla N° 3b. Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Raphanus sativus* y Ciprofloxacino sobre cepas de *Escherichia coli* cepa ATCC 25922.

		Subconjunto para alfa = 0.05				
Tratamiento	N	1	2	3	4	5
<i>Raphanus sativus</i> al 75%	10			11.1000		
Ciprofloxacino	10					30.8000
Significancia bilateral		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Se muestra la significancia (bilateral) mayor de 0.05, por consiguiente, hay diferencia significativa entre las concentraciones del extracto etanólico de *Raphanus sativus* y Ciprofloxacino sobre cepas de *Escherichia coli* cepa ATCC 25922, predominando con mayor efecto antibacteriano sobre cepas de *Escherichia coli* cepa ATCC 25922 el tratamiento con ciprofloxacino.

IV. DISCUSION

En el campo de la investigación existen muchos vacíos, siendo una de ellas la necesidad de explorar dentro de la medicina alternativa. Al investigar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Raphanus sativus* sobre *Escherichia coli* cepa ATCC 25922 en comparación con ciprofloxacino; se observa que la *Escherichia coli* fue más sensible a la actividad antibacteriana del Ciprofloxacino que a la actividad del extracto etanólico de *Raphanus sativus*.

En el presente estudio el extracto etanólico de *Raphanus sativus* sobre *Escherichia coli* cepa ATCC 25922 tiene menor efecto antibacteriano comparado con el ciprofloxacino. Si bien son escasas las investigaciones que comparan el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Raphanus sativus* sobre *Escherichia coli* cepa ATCC 25922, sin embargo el resultado obtenido durante esta investigación es similar al de Ahmad F. y colaboradores en el 2012 (8) que al realizar un estudio experimental y comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico y metanólico del *Raphanus sativus* ATCC 25922 con ciprofloxacino y cloranfenicol in vitro utilizando el *Raphanus sativus*, obtuvo como resultado que el extracto etanólico *Raphanus sativus* durante 24 horas logra menor efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* cepa ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino por otro lado Escobar D. en el 2010 (13), indica que al extracto metanólico y etanólico de la planta *Raphanus sativus*, presenta efecto antibacteriano sobre la *Escherichia coli*, llegando a confirmar, que el extracto etanólico de *Raphanus sativus* logra inhibir las colonias de *Escherichia coli*.

Janjua S, en el 2013 (9), observó el efecto antibacteriano del *Raphanus sativus* al utilizar la cascara del *Raphanus sativus*, comprobando así que esta planta logra inhibir el crecimiento de diferentes bacterias como la *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Salmonella typhi* disminuyendo halos de inhibición de estas bacterias.

Dentro de las investigaciones realizadas en la cual se observó resultados similares a este estudio se encuentra el de Surekha S, en la cual indica en su estudio que utilizando la semilla, y el zumo de la raíz del *Raphanus sativus* cultivada con *Escherichia coli* en agar caldo durante 24 horas a temperatura de 31°C, tiene efecto antibacteriano representado con menor halo de inhibición, que comparando con estudios anteriormente mencionados como el de Escobar D. en el 2010 y Ahmad F en el 2012, donde utilizaron el fruto,

cascara y hoja del *Raphanus sativus* presenta mayor efecto antibacteriano con mayor promedio de halo de inhibición (13, 8).

Por otro lado, Ortega R (19), identifica que el *Raphanus sativus* posee principales principios activos del extracto etanólico entre ellos nos explica que tanto; flavonoides, zeaxantina y luteína, son sustancias encargadas de brindarle a la planta efecto desintoxicantes, antiinflamatorios y antimicrobianos. Gallegos M. Observó que esta planta también posee enzimas como la peroxidasa que otorga la capacidad de erradicar la pared bacteriana, recalando así que dentro de sus principales funciones del *Raphanus sativus* es antibacteriano y antifúngico, entre otras propiedades (20).

Rani I, en el 2008 (12) demostró que el *Raphanus sativus* inoculándolo dentro de una placa cultivada con *Escherichia coli* durante tres a cuatro días logra disminuir la cantidad de colonias de *Escherichia coli* en mayor promedio.

El tratamiento farmacológico utilizado con mayor frecuencia en infecciones por *Escherichia coli* es el ciprofloxacino, cuyo mecanismo principal es la inhibición de la síntesis del ácido desoxirribonucleico (ADN) conduciendo así a la muerte celular bacteriana, en este estudio se evidenció que el 100% de las cepas que se utilizaron fueron sensibles al ciprofloxacino, con un halo de inhibición promedio de 30.8 mm, donde según la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) nos muestra que el promedio de inhibición del ciprofloxacino es de >21 mm, dando entender que las cepas de *Escherichia coli* utilizadas durante el estudio fueron óptimas. (24)

Al comparar ambos resultados obtenidos, se evaluó la eficacia del *Raphanus sativus* frente a ciprofloxacino y del ciprofloxacino frente a *Raphanus sativus* pudiendo afirmar que ambos grupos de estudio presentan actividad antibacteriana significativa. Estos resultados podrían deberse a muchos factores, como el tipo de suelo, el clima en el que fue cultivada, la estación en la cual fue recolectado la muestra, la temperatura en la creció, entre otros; sin embargo, esta investigación nos ayuda a motivar e incentivar a realizar futuras investigaciones en cuanto al tratamiento de patologías causadas por *Escherichia coli*.

V. CONCLUSIONES

- Las concentraciones al 75% de extracto etanolico *Raphanus sativus* posee menor efecto antibacteriano en comparación con el ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* cepa ATCC 25922.
- El extracto etanólico de *Raphanus sativus* a una concentración de 75% sobre *Escherichia coli* cepa ATCC 25922 tiene efecto antibacteriano con promedio de halo de inhibición de 11.1 mm durante 24 horas.
- El ciprofloxacino frente a *Escherichia coli* cepa ATCC 25922 presentó un halo de inhibición de 30.8 mm.

VI. RECOMENDACIONES

- Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico *Raphanus sativus* a diversas concentraciones y a mayor de 24 horas.
- Determinar en el extracto etanólico de *Raphanus sativus* su composición química y principios activos responsables de su acción bacteriológica frente a diversas cepas.
- Transmitir a los estudiantes la importancia que tiene la realización de estudios experimentales en el área de medicina alternativa.
- Desarrollar investigaciones dirigidas a conocer los efectos antibacterianos del *Raphanus sativus* frente a diversos agentes patógenos.

VII. REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Escherichia Coli, Actualización 2016.(citado en 12 abril del 2018)
Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>
2. Farfán A, Aiza S, Vargas F, Vargas R. Mecanismos de Virulencia de Escherichia Coli Enteropatógena. Colombia: Universidad de Santander; 2016. ISSN: 438-450 (citado 12 en abril del 2018)
Disponible en: <http://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v33n4/art09.pdf>
3. Baroni E, Russi N, Rubio M, Picco E, Formentini E. Actividad antibacteriana in vitro de ciprofloxacina sobre Escherichia coli: efecto del suero bovino y tamaño del inóculo. España: Laboratorio de Microbiología del Hospital de Salud Animal, 2014. N° 1. ISSN 1668-3498 (citado en 12 abril del 2018)
4. Ministerio de Salud. Centro de Atención Farmacéutica: Ciprofloxacino. Dirección General de Medicamento, Insumos y Drogas. Perú.2016. (citado en 20 abril del 2018)
Disponible en:
<http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Ciprofloxacino.pdf>
5. Gonzales J, Perez A. Desarrollo y Rendimiento del Rábano en Diferentes Mezclas de Sustrato. Mexico: Revista Tlamati Sabiduría, 2016. Volumen 7, Número 2. (citado en 12 mayo del 2018)
Disponible en: <http://tlamati.uagro.mx/t7e2/113.pdf>
6. Díaz J. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Chile: Ministerio de Agricultura; 2017. (citado en 20 abril del 2018)
Disponible en: <http://www.inia.cl/wp-content/uploads/FichasTécnicasSanidadVegetal/Ficha%2092%20Rabano.pdf>
7. Criollo H, García J. Efecto de la Densidad de la Planta Raphanus Sativun. Colombia: Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas; 2009. Vol. 3. N° 2. ISSN: 210-222 (citado en 12 mayo del 2018)
Disponible en:
<http://www.soccolhort.com/revista/pdf/magazin/vol3/vol.3.%20no.2/growth%20radish%20plants%20rabano%20densidad%20siembra.pdf>

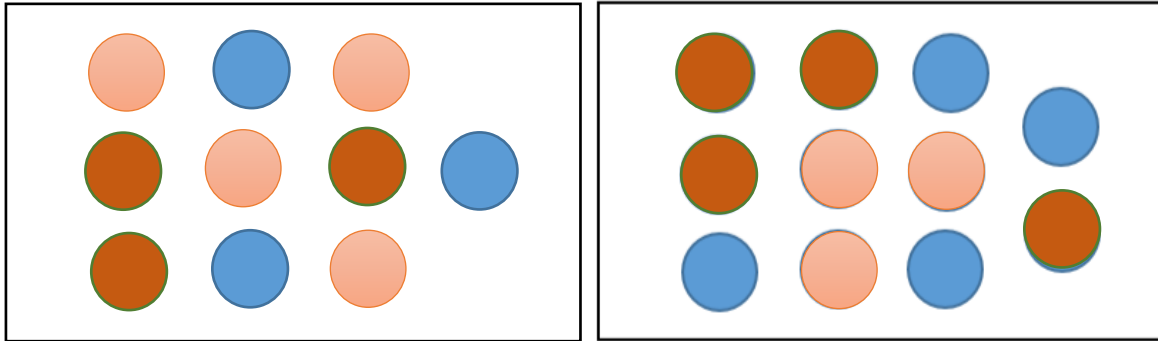
8. Ahmad F, Hasan I, Kamal D, Ahmad H. Raphanus Sativus Actividad Antibacteriana. Primera Edición. Estados Unidos: Revista Global de Investigación Médica. Editorial Global Journal Inc; 2012. Volumen 12. ISSN: 2249-4618 (citado en 12 mayo del 2018)
Disponible en: https://globaljournals.org/GJMR_Volume12/4-Antibacterial-Activity-of-Raphanus.pdf
9. Janjua S, Shahid M, Shahid A. Análisis Fitoquímico y Antibacteriano in Vitro de las Cascara de Raphanus Sativus. Primera Edición, Pakistán: Revista de Investigación Médica; 2013. Vol. 12, Numero 11. (citado en 12 mayo del 2018)
Disponible en: <http://www.netjournals.org/pdf/AMPR/2013/1/12-013.pdf>
10. Basantes V. Características del Raphanus Sativus. Ecuador: Universidad Autónoma de los Andes; 2017. (citado en 22 mayo del 2018)
Disponible en: <http://186.3.45.37/bitstream/123456789/6013/1/PIUABQF004-2017.pdf>
11. Surekha S, Chatterji S, Kumar D, Watal G. Eficacia Antimicrobial del Raphanus Sativus. India: Revista Internacional de Farmacia y Ciencias Farmacéuticas; 2011. ISSN- 0975-1491
(citado en 28 mayo del 2018)
Disponible en: <http://www.ijppsjournal.com/Vol3Suppl5/2706.pdf>
12. Rani I, Akhund S, Abro P. Potencia Antimicrobiana del Raphanus Sativus. Pakistán: Universidad de Sindh; 2008. ISSN 0258-5936 (citado 28 en mayo del 2018)
Disponible en: <file:///D:/Documents/Desktop/ANTIMICROBIAL-POTENTIAL-OF-SEED-EXTRACT-OF-RAPHANUS-SATIVUS-1.pdf>
13. Escobar D. Extractos de Plantas Como Inhibidores de la Formación de Biopelícula de Escherichia Coli O157:H7. México: Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey; 2010. (citado en 12 junio del 2018)
Disponible es: <http://eprints.uanl.mx/2111/1/1080173528.pdf>
14. Arias J. Comparación Entre el Ciprofloxacino y Otros Antibióticos Para Tratamiento de ITU. Costa Rica: Universidad de Costa Rica.; 2017, Número 2. ISSN 1409-4568 (citado en 12 junio del 2018)
Disponible en: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/enfermeria/n32/1409-4568-enfermeria-32-00104.pdf>




15. Canat M, Navarro R, Velázquez G, Rivelli S, Céspedes A. Revista Pediátrica la Asunción: Caracterización Molecular de Factores de Virulencia Asilados de Escherichia Coli, la Asunción; 2016. Volumen 43, Numero 1. (citado en 15 junio del 2018)
Disponible en: <http://scielo.iics.una.py/pdf/ped/v43n1/v43n1a02.pdf> .
16. Ares F, Sáenz R, Alfarate S. Quinolonas en Pediatría. España: Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca; 2017. ISSN:1139-7632 (citado en 15 junio del 2018)
Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/pap/v19n74/1139-7632-pap-19-74-00e83.pdf>
17. Alvarez D, Garza G, Vásquez R. Quinolonas Perspectivas Actuales y Mecanismo de Resistencia. Chile: Revista Chilena Infection; 2015. ISSN: 499-504 (citado en 18 junio del 2018)
18. Terol J, Garcia T, Ferrández C. Proyecto de Construcción de Huerto. España: Universidad Miguel Hernandez; 2015. (citado en 18 de mayo del 2018).
Disponible en:
<http://dspace.umh.es/bitstream/11000/1940/1/TFG%20Terol%20Gonz%C3%A1lez%2C%20Juan%20.pdf>
19. Ortega R, Requejo A. Estudio de Productos Dietéticos Utilizados Para el Control de Peso. España: universidad complutense de Madrid; 2016. (citado en 18 de mayo del 2018).
Disponible en: <https://eprints.ucm.es/38739/1/T37568.pdf>
20. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo. Ecuador: Anales de la Facultad de Medicina; 2016. ISSN: 1025-5583 (Citado de 22 junio del 2018).
Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/379/37949317002.pdf>
21. Zotta C, Lavayen S, Nario F, Piquin A. Escherichia Coli. Argentina: Journal of the Selva Andina Research Society; 2016.ISSN: 2072-9294 (citado en 22 junio del 2018)
Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/3613/361344736002.pdf>

22. Pimentel E, Castillo A, Quintana M, Maurtua D. Efecto Antibacteriano de Extractos Etanólicos de Plantas Utilizadas en la Tradiciones Culinarias Andinas. Perú: Revista Estomato Herediana; 2015. ISSN: 268-77 (citado 24 junio del 2018)
Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/reh/v25n4/a04v25n4.pdf>
23. Patiño L, Saavedra A, Martínez J. Extracción por Arrastre de Vapor de Aceite Esencial del Romero. Bolivia:Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Javier de Chuquisaca;2014.
Disponible en:
http://www.usfx.bo/nueva/Dicyt/Handbooks/Ciencias%20Tecnol%F3gicas%20y%20Agrarias_2/Ciencias%20Tecnol%F3gicas%20y%20Agrarias_Handbook_Vol%20I/PAPERS_25/art15.pdf
24. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI Supplement M100S. 19087 USA, 2016. ISBN 1-56238-923-8. (Citado de 24 junio del 2018)
Disponible en:
<http://ljzx.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf>
25. Laboratorio BRITANIA.Argentina.2015. vol1.B0216906 (citado en 10 de julio del 2018)
Disponible en:
http://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a284420749cd.pdf
26. Sánchez E., Castillo S., García P. Actividad Antimicrobiana: Investigación en Plantas de Importancia Médica. España: OmniaScience; 2016. (Citado en 24 de Octubre del 2018) ISSN: 2013-6374.
Disponible en:
<http://www.omniascience.com/monographs/index.php/monograficos/article/viewFile/334/247>
27. Centro de Atención Farmacéutica. DIGEMID. Ciprofloxacino. Dirección general de Medicamentos, Insumos y Drogas. Perú: MINSA, 2017. (Citado en 24 de Octubre del 2018)
Disponible en:
<http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Ciprofloxacino.pdf>

28. Statistical Product and Service Solutions. (citado de 10 julio del 2018)
Disponible en: <https://www.ibm.com/analytics/data-science/predictive-analytics/spss-statistical-software>
29. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Documento Técnico de Gestión. Manual de Bioseguridad. Lima; 2012. N° 163- 2012-DG- HNSEB (Citado de 18 julio del 2018)
Disponible en:
<http://www.hnseb.gob.pe/epi/descargas/2012/manuales/bioseguridad.pdf>

ANEXO 1



- 7 Placas de *Raphanus sativus* 
- 7 Placas de ciprofloxacino 
- 7 Placas de agua destilada 

ANEXO 2

ZONA DE INHIBICIÓN (mm)			
N°	Extracto etanólico de <i>Raphanus sativus</i>	Ciprofloxacino	Agua Destilada
	75%		
1	12	31	0
2	12	30	0
3	12	32	0
4	11	31	0
5	10	30	0
6	12	31	0
7	10	30	0
8	10	32	0
9	11	30	0
10	11	31	0

ANEXO 3

AGAR MUELLER – HINTON (25)

Se utiliza para el análisis de sensibilidad antibacteriana de aislados de microorganismos exigentes conforme a las normas del Comité Europeo de Antibiógramas (EUCAST)

Para realizar el control de calidad del usuario, se deben consultar las recomendaciones de EUCAST. Inocular muestras representativas con las cepas de *Escherichia Coli* ATCC 25922. Incubar las placas, preferiblemente en posición invertida, según las condiciones de temperatura, tiempo y que son 41 ± 1 °C en atmósfera micro aerobia durante 24 h

Preparar el agar a base de deshidratación. Post autoclavado enfríe en baño a 45-50° C, Verter a placa en superficie horizontal 4 mm de profundidad. Volumen: 60-70 ml para placas de 150 mm y 25-30 ml para placas de 100 mm enfriar a temperatura ambiente y almacenar en refrigeración (4-8 °C). Duración: 7 y hasta 14 días.

Para realizar el procedimiento de análisis de susceptibilidad antibacteriana basado en el método Kirby-Bauer, de uso generalizado, un inóculo de crecimiento confluyente del microorganismo se extiende mediante una torunda sobre toda la superficie del medio. A continuación, se colocan sobre la superficie de los medios discos de papel impregnados con cantidades específicas de antibiótico u otro agente antimicrobiano, se incuba la placa y se mide la zona de inhibición en torno a cada disco de antibiótico. La determinación de si el organismo es sensible (S), intermedio (I) o resistente (R) a un agente específico se realiza mediante la comparación del tamaño de las zonas obtenidas con los tamaños enumerados en las tablas de valores críticos de EUCAST.

ANEXO 4

MEDIO DE CULTIVO KIRBY-BAUER (26)

Este es un método cualitativo, que nos permite valorar la sensibilidad de los discos antibióticos a partir de los halos de inhibición obtenidos

Los pasos para el método de difusión agar son:

PASO 01: Preparación del Inóculo, a partir de una placa de cultivo incubada de 18 a 24 horas, coger varias colonias de *Escherichia Coli* ATCC 25922 con un asa bacteriológica y ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de McFarland 0.5 en suero fisiológico. Agitar en un agitador "vortex" durante 15-20 segundos

PASO 02: Inoculación de las Placas, antes de que transcurran 15 minutos de haberse ajustado el inóculo, introducir un Hisopo dentro de la suspensión y al retirarlo rotar varias veces contra la pared del tubo por encima del nivel del líquido con la finalidad de eliminar el exceso de inóculo. Inocular las placas de Mueller-Hinton completamente, sin dejar ninguna zona libre. Esto se consigue deslizando el hisopo por la superficie del agar tres veces, rotando la placa unos 60° cada vez y pasándola por último por la periferia del agar para conseguir una siembra uniforme. Dejar secar de 3 a 5 minutos antes de depositar los discos.

PASO 03: Dispensación de los Discos, colocar los discos con los dispensadores o manualmente con pinzas estériles. Debe asegurarse que contacten perfectamente con la superficie del agar, por lo que deben presionarse ligeramente sobre la superficie del agar. No deben situarse a menos de 15 mm del borde de la placa, y han de estar distribuidos de forma que no se produzca superposición de los halos de inhibición. Para placas de 150 mm no se emplearán más de 12 discos y para las de 100 mm no más de 6 discos. Incubar las placas invertidas (agar en la parte superior), en grupos no superiores a 5 placas, a 35°C en atmósfera aeróbica antes de que transcurran 15 minutos.

Lectura de los Resultados, después de 18 horas de incubación leer el diámetro de las zonas de completa inhibición con un pie de rey o regla.